

土壤中典型污染物对抗生素耐药基因传播的影响

王嘉炜^{1,2,3,4}

¹陕西地建土地工程技术研究院有限责任公司, 陕西 西安

²陕西省土地工程建设集团有限责任公司, 陕西 西安

³自然资源部退化及未利用土地整治工程重点实验室, 陕西 西安

⁴陕西省土地整治工程技术研究中心, 陕西 西安

收稿日期: 2021年9月12日; 录用日期: 2021年10月14日; 发布日期: 2021年10月21日

摘要

土壤是生态系统的重要组成部分。它是物质循环和能量运输最活跃的界面, 也是动植物赖以生存的底物和空间, 同时有极其丰富的生物多样性。土壤在整个自然界中占据着关键位置, 承载着约90%的污染物。同时, 也是污染物向大气、水等环境介质迁移转化的重要“源头”。本文探讨了细菌耐药机制和抗生素耐药基因的传播途径, 以抗生素、重金属和有机物为代表, 探讨土壤中主要污染物对耐药基因传播的影响, 以期为公众健康和环境安全提供指导。

关键词

污染物, 抗生素耐药基因(ARGs)

Influence of Typical Pollutants in Soil on the Spread of Antibiotic Resistance Genes

Jiawei Wang^{1,2,3,4}

¹Institute of Engineering and Technology, Shaanxi Provincial Land Engineering Construction Group Co., Ltd., Xi'an Shaanxi

²Shaanxi Provincial Land Engineering Construction Group Co., Ltd., Xi'an Shaanxi

³Key Laboratory of Degraded and Unused Land Consolidation Engineering, The Ministry of Land and Resources, Xi'an Shaanxi

⁴Shaanxi Provincial Land Consolidation Engineering Technology Research Center, Xi'an Shaanxi

Received: Sep. 12th, 2021; accepted: Oct. 14th, 2021; published: Oct. 21st, 2021

Abstract

Soil is a key component of ecosystem. It is not only the most active interface for material circulation and energy transportation, but also the substrate and space for animals and plants to survive, and has extremely rich biodiversity. Soil occupies the central position of the key zone in the entire nature, which carries about 90% of the pollutants. At the same time, it is an important "source" for the migration and transformation of pollutants to the atmosphere, water and other environmental media. This article discussed the drug resistance mechanism of bacteria and the transmission route of antibiotic resistance genes, taking antibiotics, heavy metals and organics as representatives to discuss the impact of major pollutants in the soil on the transmission of drug resistance genes, in order to provide guidance for public health and environmental safety.

Keywords

Pollutants, Antibiotic Resistance Genes (ARGs)

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

基于土壤独特的功能和性质，土壤中的污染物不仅直接影响土壤表面动植物的生长，还会对农田生态系统造成不可逆转的破坏，并且会通过多种暴露途径(如食物链等)从而对人体产生危害[1]。

根据土壤污染物的特性，土壤污染物大致可分为无机污染、有机污染和生物污染三大类。土壤无机污染以重金属和类金属污染(如镉、铜、铅、铬、砷、汞等)为主。另一方面，有机污染主要由农药、多氯联苯、多环芳烃等造成。近年来，生物污染逐渐引起人们的重视，生物污染是指一些病原体或有害生物从其他介质进入土壤环境，破坏生态系统平衡，导致土壤退化的一种污染现象[2]，抗生素耐药基因就是生物污染物的典型代表，早在 2006 年，抗生素抗性基因作为环境中的新型污染物首次被提出，国际上对抗生素抗性基因在环境研究领域受关注的程度日益增加，与国外相比，国内研究工作开展较晚，相关研究较少，但是近年来国内的研究也迅速增加。

抗生素耐药基因(Antibiotic Resistance Genes, ARGs)在生态环境中的传播、迁移和扩散已成为全球公共卫生安全的重要因素。自 2006 年以来，ARGs 因其不可降解、易迁移等特点而被公认为新的环境污染物。过去，研究人员关注的重点是 ARGs 在临床上的影响，但随着研究的不断深入，研究者们意识到 ARGs 对土壤的影响也是至关重要的，土壤环境不仅是 ARGs 的储存库，也是 ARGs 增殖、迁移和扩散的重要介质[3]。ARGs 有两种广为人知的传播方式：固有抗性传播和获得性抗性传播。抗性细菌作为抗性基因的载体，通过垂直转移将 ARGs 传递给后代。外源抗性基因通过水平转移传递给敏感细菌，这就是获得性抗性传递[4]，其传播范围更广，程度更深，获得性抗性传播能够将细菌中的 ARGs 跨属传递给其他细菌或物种，并通过食物链传播到动植物，甚至是人类[5]。

土壤环境中的残留的一些抗生素污染会导致细菌长期处在选择性抗生素压力，从而造成某些耐药细菌和 ARGs 的产生。随着土壤生态环境污染的加剧，ARGs 在土壤中的传播、迁移和扩散机制变得更加复杂。研究发现，除抗生素外，重金属[6]、纳米颗粒[7]、离子液体[8]、生物杀菌剂[9]和消毒剂[10]都会

影响抗性基因的转移。

本文论述了细菌的耐药机制和抗生素耐药基因的传播途径,并以抗生素、重金属和有机物为代表,探讨土壤中主要污染物对抗生素耐药基因传播的影响,以期为公众健康和保障环境安全提供指导,但环境污染对抗生素抗性基因的扩散机制尚不明晰,希望本研究引起人们对该领域的更多关注。

2. 抗性基因的传播

细菌获得耐药基因的途径主要有两种。第一种是在环境的选择性压力下,为了继续生存,其基因发生自发突变产生抗生素耐药基因;第二种是抗生素抗性基因在细菌之间转移,耐药基因转移分为垂直转移和水平转移。前者是指亲代和子代遗传导致的耐药基因传播,后者是指耐药基因通过可移动元件(转座子、质粒和整合子)转移,并且能够在不同物种的菌株间水平传播。仅靠环境选择性压力导致的自发基因突变和 ARGs 的垂直转移并不会造成耐药基因如此广泛的传播,值得警惕的是抗生素抗性基因的水平转移可能才是导致 ARGs 污染加剧的主要因素。

一般来说,细菌水平转移的主要方式有接合、转化和转导。

接合是指携带 ARGs 的环型 DNA 通过接触转移到其他敏感菌株的过程,细菌的接合转移通常需要借助可移动的遗传元件(质粒、转座子和整合子)。通过接合转移,ARGs 不仅可以跨属转移,而且可以从革兰氏阴性菌转移到革兰氏阳性菌[11]。通常来说,接合转移是对 ARGs 传播影响最大的转移方式[12]。

转化是指处于感受态的细菌直接从环境中摄取游离 DNA 的过程。转化成功发生的必备条件有二:一是受体菌的细胞膜通透性增大,处于感受态(需要环境中含有较高的 Ca^{2+} 和 Mg^{2+}),准备接受 DNA 的进入;二是需要大量的游离 DNA。这些 DNA 极易被环境中存在的 DNA 酶降解,故导致环境中自然转化的概率并不高[13][14]。

转导是指噬菌体错误的组装了携带有 ARGs 的供体菌 DNA [15],然后将 ARGs 转移到另一个细胞的过程。供体菌由于受到了噬菌体的攻击而发生裂解,DNA 游离到周围环境中[16]。

3. 土壤中常见污染物对 ARGs 的影响

3.1. 抗生素

自 1929 年发现青霉素以来,抗生素在临床领域已得到广泛应用,为医学的发展做出了巨大贡献。然而,随着多种抗生素在临床治疗、畜禽养殖中的普及,导致的大量滥用、不规范使用,土壤中检测到越来越多的抗生素[15]。土壤中抗生素的残留提供了一种环境选择压力,使原生细菌耐受抗生素而存活,而敏感细菌则逐渐丧失生存能力。随着土壤中抗生素污染的持续严重,细菌为了适应这种抗生素压力,发生自发性基因突变,产生 ARG,且会通过垂直和水平转移传递给其他敏感细菌。因此,这一系列的结果导致土壤环境中细菌的抗药性不断增加,抗药谱不断拓宽,抗药性基因的丰度也在逐步增加[16]。相关研究表明,抗生素残留与耐药基因的丰度呈正相关,并会进一步导致耐药基因的传播[17]。

3.2. 重金属

重金属污染不同于抗生素污染,由于其二者的化学结构不同,抗生素可以在环境中被水解,从而削弱对耐药基因传播的影响。然而,重金属不仅是广泛存在于环境中,而且其能够持久的存在于土壤中难以降解,长期积累使其持续维持在毒性水平[18]。研究表明,自然环境中的重金属污染会导致抗生素耐药基因的传播,这也是导致耐药基因不断传播的重要原因之一[19]。

值得注意的是,重金属与抗生素具有协同作用,并会进一步影响耐药基因的传播。Yang 等人研究了中国武汉 6 个城市湖泊中磺胺类、四环素类以及喹诺酮类抗生素耐药基因的分布及其相关影响因素

的分析, 结果表明抗生素和重金属的共同驱动力是 ARGs 在 6 个城市湖泊中传播的主要因素[20]。

一般认为抗生素残留是 ARGs 传播的关键选择压力, Ji 等人对养殖场的畜禽粪便和周围土壤进行了分析, 发现抗生素残留量与 ARGs 丰度之间只有微弱的相关性。相反, 一些 ARGs 的丰度与典型的重金属浓度之间存在显著的正相关性[21], 此项研究强调了重金属在 ARGs 迁移和扩散中的潜在作用。

3.3. 有机物

持久性有机污染物在环境中有很长的半衰期, 它可以通过食物链对生态系统、动植物甚至人类健康产生不利影响。多环芳烃、多氯联苯和杀虫剂是众所周知的有机污染物。现有的研究表明, 有机污染物会对 ARGs 产生明显的选择压力, 从而极大地加速 ARGs 的水平转移扩散的速度[22] [23] [24]。研究发现, 萘、菲、芘等有机化合物通过筛选可以增加 I 类整合子的丰度, 促进 *sul* 基因的横向迁移速率[23] [25]。多种农药的复合污染环境大大增加了 IncP-1b 质粒的丰度, 加速了 ARGs 在细菌间的传播[23] [24]。此外, Sun 的研究发现, ARGs 的丰度与有机污染物的生物有效性浓度之间的相关性明显高于总有机污染物的浓度[26]。

4. 环境中抗生素常见去除方式

传统消毒工艺: 目前, 对于水环境中抗性基因最常用的处理方式是人工湿地法, 人为建造的湿地能够对针对水域抗性基因的污染情况进行有针对性的设计, 比如植物类型、环境喂牛犊、填料种类等[27], 有研究表明, 温度对人工湿地的抗性基因去除效果有一定的影响, Li [28]等人的研究表明, 冬季去除效果优于夏季, 这可能是因为夏季温度更适宜微生物的繁殖, 导致抗性基因的水平传播比较明显。除此之外, 氯消毒、紫外线消毒以及臭氧消毒也是比较常见的方法[29]。

电离辐射技术: 这种方法主要是利用射线或高能电子束破坏细菌细胞内的 DNA 从而破坏抗性基因, 并杀死细胞。电离辐射作用分为直接和间接两种, 直接作用是指作用在 DNA 上, 而间接作用则是对细胞内的水分子由于电离作用产生的羟基自由基, 进而对 DNA 进行破坏。两种方式的最终结果都是作用于 DNA 上[30]。

好氧堆肥和厌氧堆肥: 该种方式是通过提高温度对微生物作用进一步去除耐药菌株以及抗性基因, 传统的好氧堆肥和厌氧消化温度通常控制在 55°C [31], 但是该方法对温度要求过高, 并不能快速有效减少 ARGs 以及一些可移动元件, 且长时间的高温胁迫可能会导致嗜热耐药菌株的产生[32]。

5. 结论

抗生素、重金属和有机污染物都是影响 ARGs 扩散的重要因素, 本文综述了这三种环境中常见污染物对抗生素抗性基因传播的影响, 但值得注意的是, 各种因素并不是单独起作用的, 而是表现为复杂的、综合的影响。除此之外, 列举了目前较为常见的传统消毒方法、电离辐射方法、好氧堆肥以及厌氧消化技术这 4 种去除抗性基因的方法, 但每种方法都存在一定的弊端, 抗性基因对环境的污染不可忽视, 且因其广泛的传播性迫切需要找到恰当的去方法, 因此, 迫切需要运用多学科的研究方法, 在宏观和微观环境中进行多重选择压力下的 ARGs 传播机制研究, 以更好地评估和控制复杂环境下 ARGs 的转移和传播风险, 并采用有效的手段对环境中的抗性基因进行去除, 从而削减其对环境造成的不良影响。

基金项目

陕西省自然科学基金基础研究计划(2021JZ-57)。

参考文献

- [1] Wang, Y., Wang, B., Fu, J. and Ruan T. (2013) Research Progress of New Organic Pollutants. *Chemistry Bulletin*, **76**,

- 3-14.
- [2] Bradford, S., Morales, V., Zhang, W., Harvey, R.W., Packman, A.I., Mohanram, A., *et al.* (2013) Transport and Fate of Microbial Pathogens in Agricultural Settings. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, **43**, 775-893. <https://doi.org/10.1080/10643389.2012.710449>
 - [3] Martinez, J. (2008) Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes in Natural Environments. *Science*, **321**, 365-367. <https://doi.org/10.1126/science.1159483>
 - [4] Aminov, R. and Mackie, R.I. (2007) Evolution and Ecology of Antibiotic Resistance Genes. *FEMS Microbiology Letters*, **271**, 147-161. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00757.x>
 - [5] Wright, M., Baker-Austin, C. and Lindell, A. (2008) Influence of Industrial Contamination on Mobile Genetic Elements: Class 1 Integron Abundance and Gene Cassette Structure in Aquatic Bacterial Communities. *The ISME Journal*, **2**, 417-428. <https://doi.org/10.1038/ismej.2008.8>
 - [6] Zhang, Y., Gu, A., Cen, T., Li, X., He, M., Li, D., *et al.* (2018) Sub-Inhibitory Concentrations of Heavy Metals Facilitate the Horizontal Transfer of Plasmid-Mediated Antibiotic Resistance Genes in Water Environment. *Environmental Pollution*, **237**, 74-82. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.032>
 - [7] Qiu, Z., Yu, Y., Chen, Z., Jin, M., Yang, D., Zhao, Z., *et al.* (2012) Nanoalumina Promotes the Horizontal Transfer of Multiresistance Genes Mediated by Plasmids across Genera. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **109**, 4944-4949. <https://doi.org/10.1073/pnas.1107254109>
 - [8] Wang, Q., Mao, D. and Luo, Y. (2015) Ionic Liquid Facilitates the Conjugative Transfer of Antibiotic Resistance Genes Mediated by Plasmid RP4. *Environmental Science & Technology*, **49**, 8731-8740. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01129>
 - [9] Wang, Y., Lu, J., Mao, L., Li, J., Yuan, Z., Bond, P.L., *et al.* (2018) Antiepileptic Drug Carbamazepine Promotes Horizontal Transfer of Plasmid-Borne Multi-Antibiotic Resistance Genes within and across Bacterial Genera. *The ISME Journal*, **13**, 509-522. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0275-x>
 - [10] Zhang, Y., Gu, A.Z., He, M., Li, D. and Chen, J. (2017) Subinhibitory Concentrations of Disinfectants Promote the Horizontal Transfer of Multidrug Resistance Genes within and across Genera. *Environmental Science & Technology*, **51**, 570-580. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b03132>
 - [11] Sorensen, S., Bailey, M. and Hansen, L. (2005) Studying Plasmid Horizontal Transfer *in Situ*: A Critical Review. *Nature Reviews Microbiology*, **3**, 700-710. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1232>
 - [12] Von Wintersdorff, C., Penders, J., Van Niekerk, J., Mills, N.D., Majumder, S., van Alphen, L.B., *et al.* (2016) Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. *Frontiers in Microbiology*, **7**, Article No, 173. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00173>
 - [13] Dodd, M.C. (2012) Potential Impacts of Disinfection Processes on Elimination and Deactivation of Antibiotic Resistance Genes during Water and Wastewater Treatment. *Journal of Environmental Monitoring*, **14**, 1754-1771. <https://doi.org/10.1039/c2em00006g>
 - [14] Colomer-Lluch, M., Calero-Caceres, W., Jebri, S., Hmaied, F., Jaime Muniesa, M.L. and Jofre, J. (2014) Antibiotic Resistance Genes in Bacterial and Bacteriophage Fractions of Tunisian and Spanish Wastewaters as Markers to Compare the Antibiotic Resistance Patterns in Each Population. *Environment International*, **73**, 167-175. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.07.003>
 - [15] Waksman, S.A. and Woodruff, H.B. (1941) *Actinomyces Antibioticus*, a New Soil Organism Antagonistic to Pathogenic and Non-Pathogenic Bacteria. *Journal of Bacteriology*, **42**, 231-249. <https://doi.org/10.1128/jb.42.2.231-249.1941>
 - [16] West, B.M., Liggitt, P., Clemans, D.L. and Francoeur, S.N. (2011) Antibiotic Resistance, Gene Transfer, and Water Quality Patterns Observed in Waterways Near CAFO Farms and Wastewater Treatment Facilities. *Water Air & Soil Pollution*, **217**, 473-489. <https://doi.org/10.1007/s11270-010-0602-y>
 - [17] Zhu, N., Jin, H., Ye, X., Liu, W., Li, D., Mustafa Shah, G., *et al.* (2020) Fate and Driving Factors of Antibiotic Resistance Genes in an Integrated Swine Wastewater Treatment System: From Wastewater to Soil. *Science of the Total Environment*, **721**, Article ID: 137654. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137654>
 - [18] Song, J., Rensing, C., Holm, P.E., Virta, M. and Brandt, K.K. (2017) Comparison of Metals and Tetracycline as Selective Agents for Development of Tetracycline Resistant Bacterial Communities in Agricultural Soil. *Environmental Science & Technology*, **51**, 3040-3047. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b05342>
 - [19] Knapp, C.W., Mccluskey, S., Singh, B.K., Campbell, C.D., Hudson, G. and Graham, D.W. (2011) Antibiotic Resistance Gene Abundances Correlate with Metal and Geochemical Conditions in Archived Scottish Soils. *PLoS ONE*, **6**, Article ID: e27300. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027300>
 - [20] Yang, Y., Xu, C., Cao, X., Lin, H. and Wang, J. (2017) Antibiotic Resistance Genes in Surface Water of Eutrophic Urban Lakes Are Related to Heavy Metals, Antibiotics, Lake Morphology and Anthropogenic Impact. *Ecotoxicology*, **26**,

- 831-840. <https://doi.org/10.1007/s10646-017-1814-3>
- [21] Ji, X., Shen, Q., Liu, F., Ma, J., Xu, G., Wang, Y., *et al.* (2012) Antibiotic Resistance Gene Abundances Associated with Antibiotics and Heavy Metals in Animal Manures and Agricultural Soils Adjacent to Feedlots in Shanghai; China. *Journal of Hazardous Materials*, **235-236**, 178-185. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.07.040>
- [22] Wang, J., Wang, J., Zhao, Z., Chen, J., Lu, H., Liu, G., *et al.* (2017) PAHs Accelerate the Propagation of Antibiotic Resistance Genes in Coastal Water Microbial Community. *Environmental Pollution*, **231**, 1145-1152. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.067>
- [23] Anjum, R., Grohmann, E. and Malik, A. (2011) Molecular Characterization of Conjugative Plasmids in Pesticide Tolerant and Multi-Resistant Bacterial Isolates from Contaminated Alluvial Soil. *Chemosphere*, **84**, 175-181. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.02.002>
- [24] Dealtry, S., Holmsgaard, P.N., Dunon, V., Jechalke, S., Ding, G.-C., Krögerrecklenfort, E., *et al.* (2014) Shifts in Abundance and Diversity of Mobile Genetic Elements after the Introduction of Diverse Pesticides into an On-Farm Biopurification System over the Course of a Year. *Applied and Environmental Microbiology*, **80**, 4012-4020. <https://doi.org/10.1128/AEM.04016-13>
- [25] Sun, M., Ye, M., Wu, J., Feng, Y., Shen, F., Tian, D., *et al.* (2015) Impact of Bioaccessible Pyrene on the Abundance of Antibiotic Resistance Genes during *Sphingobium* sp. and Sophorolipid Enhanced Bioremediation in Soil. *Journal of Hazardous Materials*, **300**, 121-128. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.06.065>
- [26] Sun, M., Ye, M., Wu, J., Feng, Y., Wan, J., Tian, D., *et al.* (2015) Positive Relationship Detected between Soil Bioaccessible Organic Pollutants and Antibiotic Resistance Genes at Dairy Farms in Nanjing, Eastern China. *Environmental Pollution*, **206**, 421-428. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.07.022>
- [27] 张治国, 李斌绪, 李娜, 许坤, 朱昌雄, 李红娜, 等. 污水深度处理工艺对抗生素抗性菌和抗性基因去除研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(10): 2091-2100.
- [28] Li, S., Zhang, R., Hu, J., Shi, W., Kuang, Y., Guo, X., *et al.* (2019) Occurrence and Removal of Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes in Natural and Constructed Riverine Wetlands in Beijing, China. *Science of the Total Environment*, **664**, 546-553. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.043>
- [29] Yuan, Q.B., Guo, M.T. and Yang, J. (2015) Fate of Antibiotic Resistant Bacteria and Genes during Wastewater Chlorination: Implication for Antibiotic Resistance Control. *PLoS ONE*, **10**, Article ID: e0119403. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119403>
- [30] Basfar, A.A. and Abdel Rehim, F. (2002) Disinfection of Wastewater from a Riyadh Wastewater Treatment Plant with Ionizing Radiation. *Radiation Physics & Chemistry*, **65**, 527-532. [https://doi.org/10.1016/S0969-806X\(02\)00346-8](https://doi.org/10.1016/S0969-806X(02)00346-8)
- [31] Liao, H., Lu, X., Rensing, C., Petri Friman, V., Geisen, S., Chen, Z., *et al.* (2018) Hyperthermophilic Composting Accelerates the Removal of Antibiotic Resistance Genes and Mobile Genetic Elements in Sewage Sludge. *Environmental Science & Technology*, **52**, 266-276. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b04483>
- [32] Youngquist, C.P., Mitchell, S.M. and Cogger, C.G. (2016) Fate of Antibiotics and Antibiotic Resistance during Digestion and Composting: A Review. *Journal of Environmental Quality*, **45**, 537-545. <https://doi.org/10.2134/jeq2015.05.0256>